



Практическое значение ДНК диагностики у пациентов с ретинобластомой

Ушакова Т.Л.^{1,3}, Казубская Т.П.¹, Козлова В.М.¹, Михайлова С.Н.¹,
Горовцова О.В.¹, Серов Ю.А.¹, Югай О.В.¹, Алексеева Е.А.², Стрельников
В.В.², Поляков В.Г.^{1,3}

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, Москва, Россия.

² ФГБУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

³ Кафедра детской онкологии РМАНПО

Москва

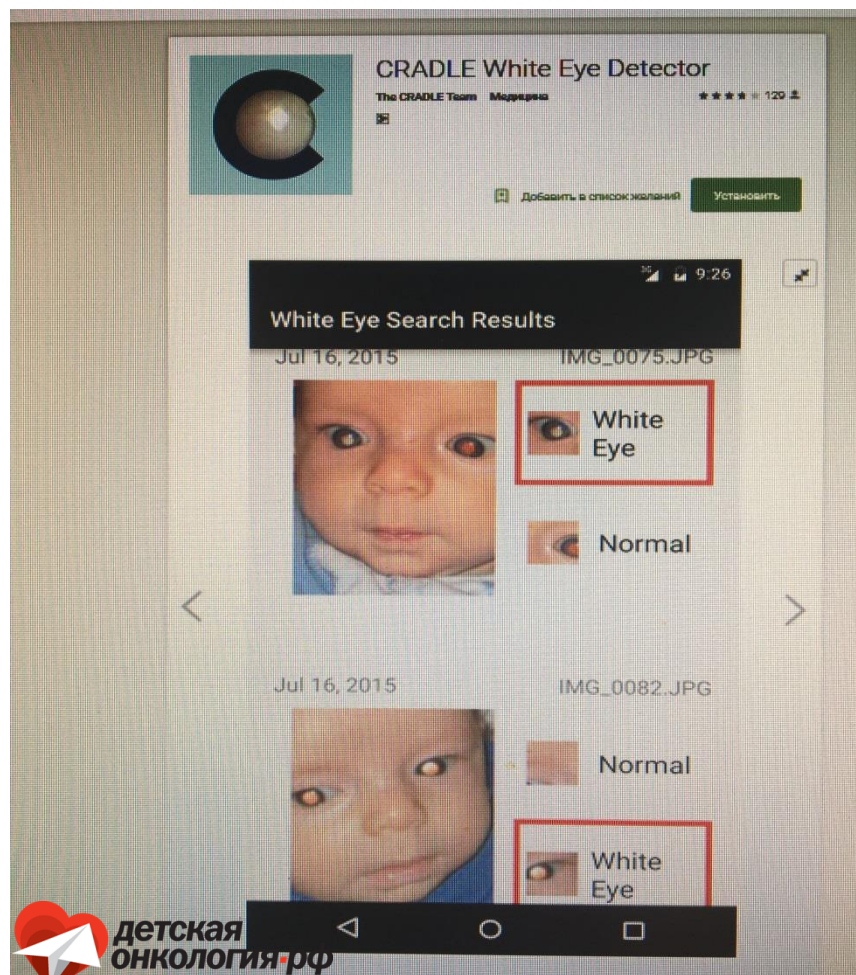
21.12.2017

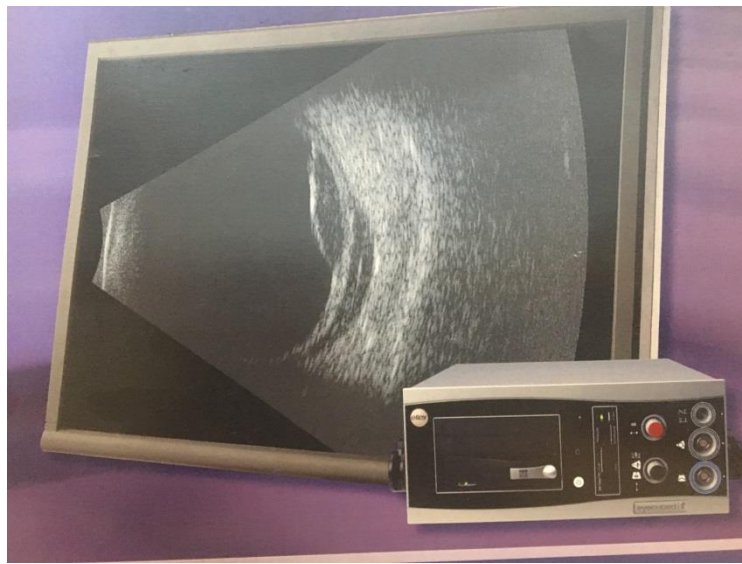
Частота злокачественных опухолей у детей в зависимости от возраста

Вид опухоли	1-15 лет	до 1 года
острый лейкоз	28%	16.5%
опухоли ЦНС	21%	10.5%
лимфомы	11%	0%
нейробластомы	7.5%	30%
опухоль Вилмса	6%	9%
мягкотканые саркомы	6%	7%
остеосаркома и саркома Юинга	5%	0%
ретинобластома	3%	14%
прочие	12.5%	13%

Существуют приложения для смартфонов, способные распознавать "**светящийся зрачок** = **лейкокория**", что может помочь в ранние сроки заподозрить ретинобластому. *Чаще фотографируйте своих детей!!!*

Ретинобластома – это внутриглазная злокачественная опухоль сетчатки, которая развивается бессимптомно и скрыто, манифестирует с появлением **лейкокории** и угрожает жизни пациента (Б.М. Белкина 1993, А.Ф. Бровкина 1995-2002, Пантелеева О.Г. 1997, Саакян С.В., 2005).



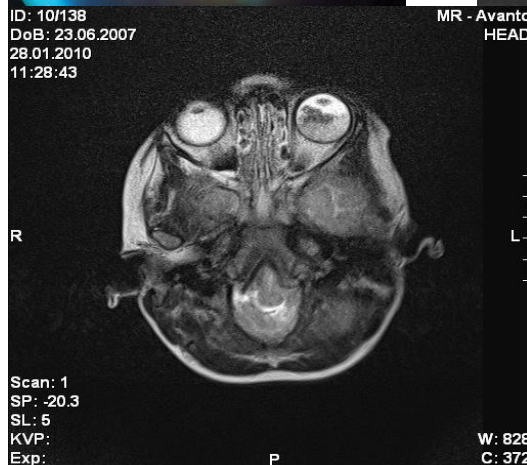
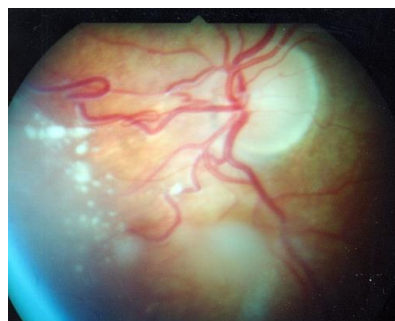


Алгоритм обследования больных с РБ в профильном учреждении

Исследование
глазного дна и УЗИ
глаз под общей
анестезией

Состояние головного
мозга и орбит
оценивается МРТ

1. Цитологическое исследование ликвора и аспирационного биоптата костного мозга
2. Сканирование костной системы и мягких тканей



1. Микроскопическая резидуальная болезнь (риск метастазирования)
2. Экстраокулярная РБ (орбита, лимфатические узлы, дистанционные метастазы)

Консультация
генетика

Ген RB1

Заболевают 1/15000 новорожденных (Aerts I, Lumbroso-Le Rouic L, et al., 2015)

**Развивается внутриутробно или в первые 5 лет жизни;
Характеризуется высокой степенью злокачественности,
инвазивностью и способностью быстро метастазировать в
соседние органы и ткани;**

Односторонняя РБ (60%), средний возраст диагностики 2 года

Двусторонняя РБ (40%), средний возраст диагностики до 1 года

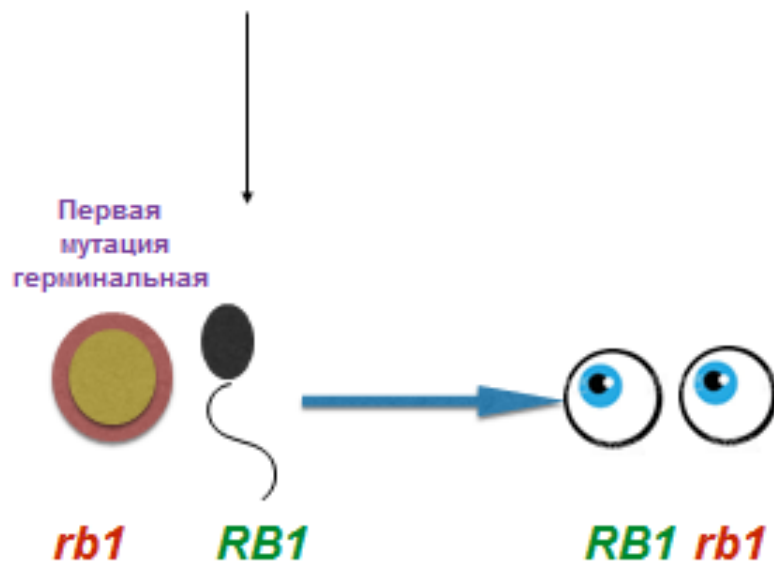
Трехсторонняя РБ сочетание двусторонней РБ с опухолью в области шишковидной железы, но может занимать и срединные структуры мозга.

Клинически опухоль проявляется спустя 2-3 года после обнаружения двусторонней РБ. У маленьких детей признаки внутричерепного поражения могут проявить себя до появления видимых признаков поражения глаз.

Классификация РБ

Наследственная форма

- составляет 40%: 10% - семейные случаи, 30% - мутации *de novo*;
- AD тип наследования;
- пенетрантность 90%;
- мультифокальная опухоль;
- ранняя манифестация (до 1 года);
- 2/3 случаев - билатеральная, 1/3 - унилатеральная.



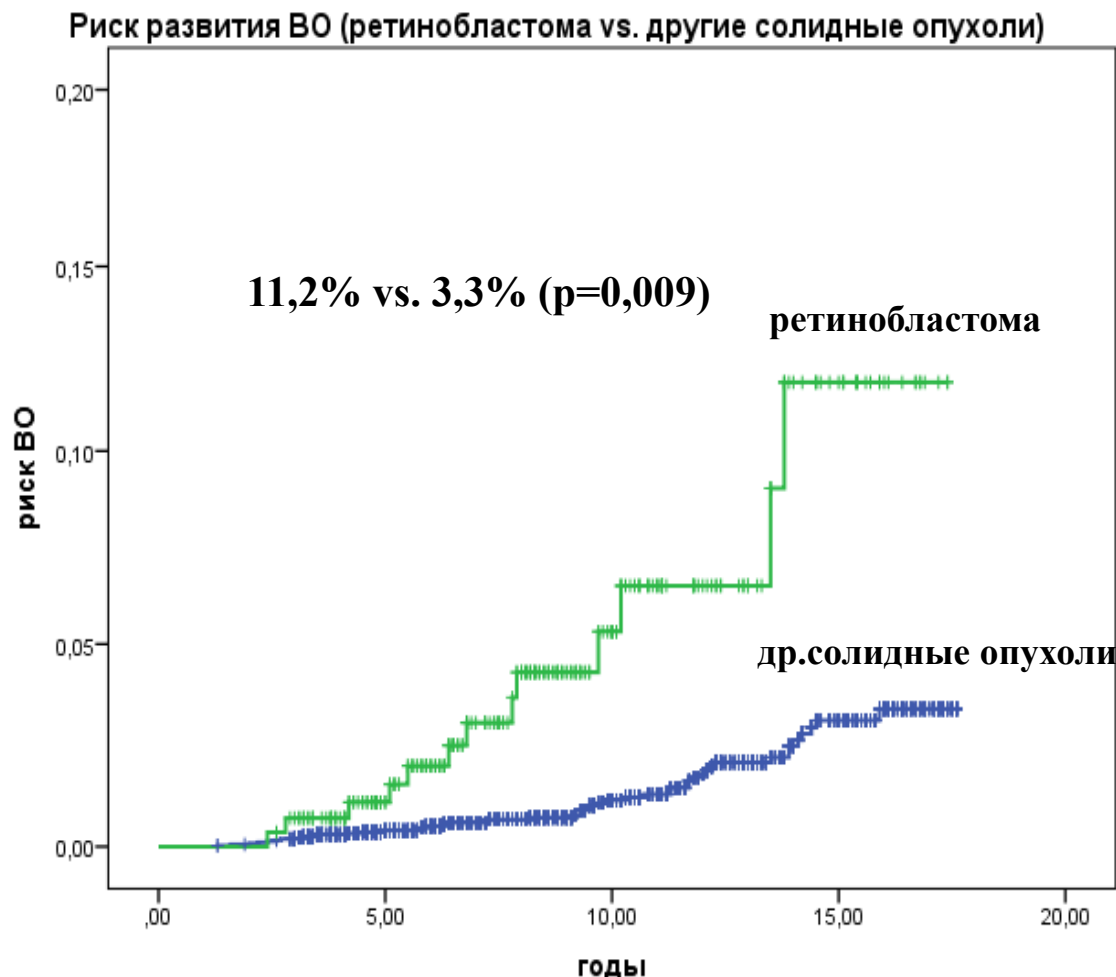
Спорадическая форма

- составляет 60%;
- монофокальная;
- унилатеральная;
- манифестация после 2 лет.



РИСК РАЗВИТИЯ ВТОРЫХ ОПУХОЛЕЙ

ретинобластома vs. прочие



У пациентов с первичной ретинобластомой достоверно чаще, по сравнению с другими пациентами как с солидными опухолями, так и с гемобластозами, развивалась вторая остеосаркома

(46,2% vs. 8.8%, $p=0,026$).

(Михайлова С.Н., 2017)

Ретинобластома

Лечение - баланс между жизнью пациента и сохранением глаза как органа и зрительных функций

Органосохраняющее:

1. Фокальная терапия РБ:

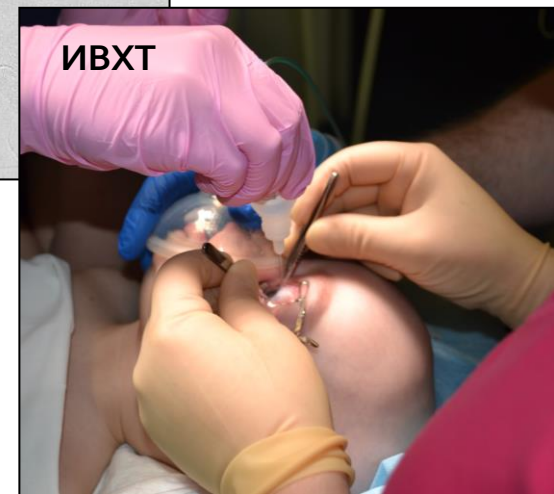
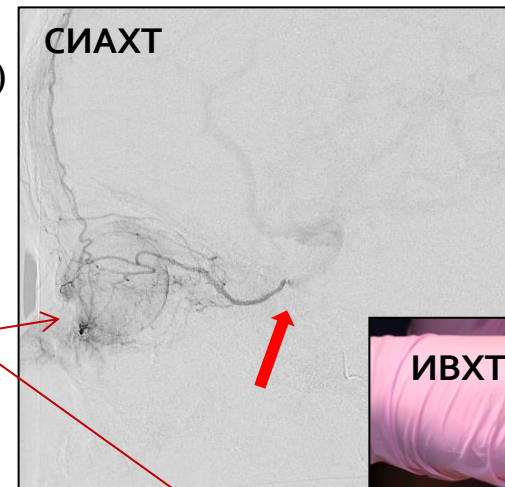
- Брахитерапия (БТ)
- Криодеструкция
- Лазеркоагуляция
- Лазерная транспупиллярная термотерапия (ТТТ)

Ликвидационное

1. энуклеация
2. экзентерация

2. Системная и локальная ХТ (интравитреальная, селективная интраартериальная)

3. Дистанционная лучевая терапия



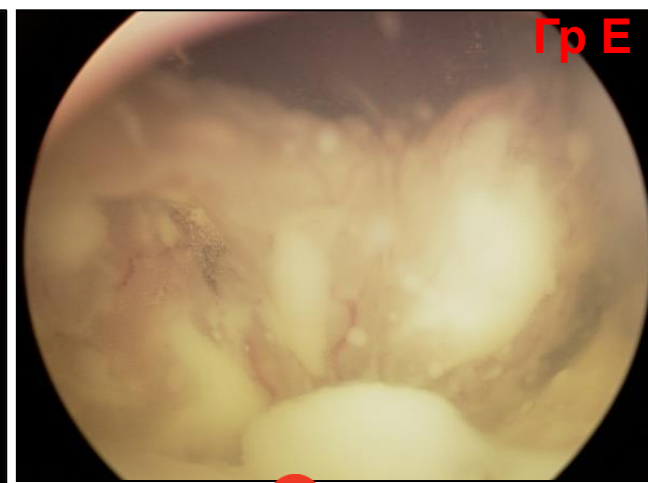
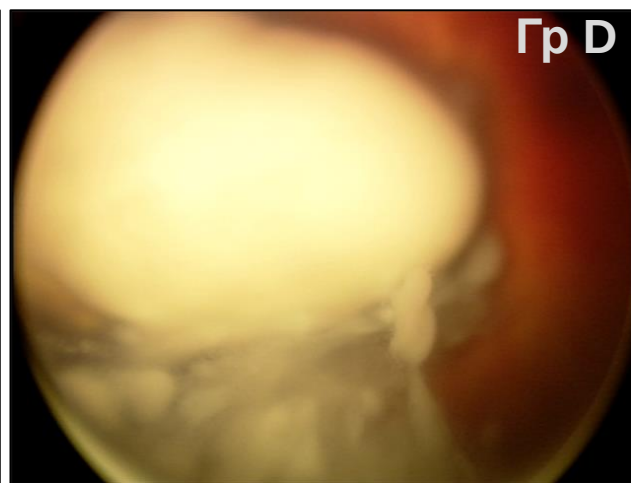
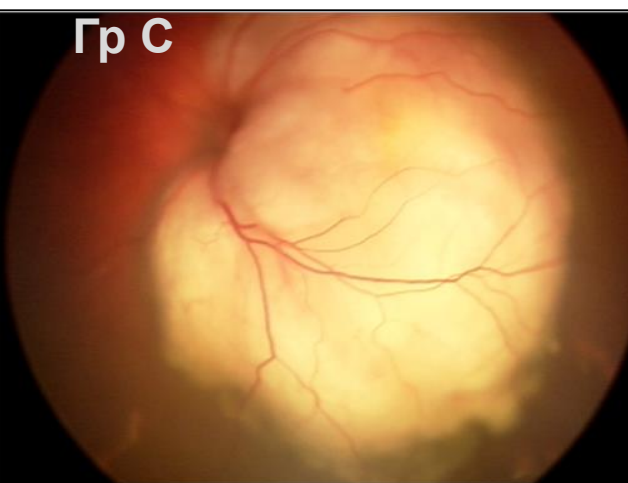
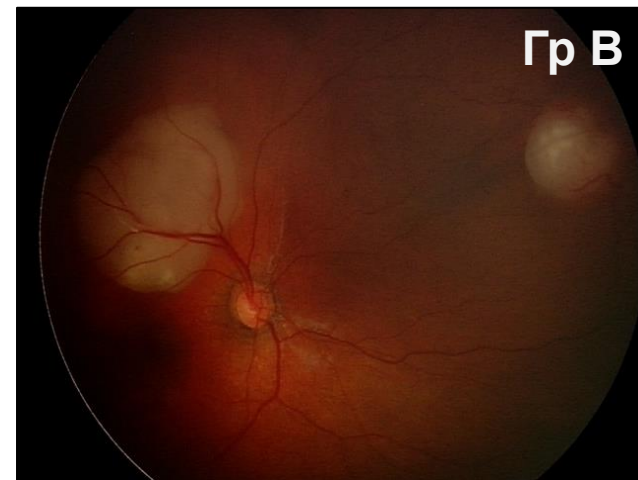
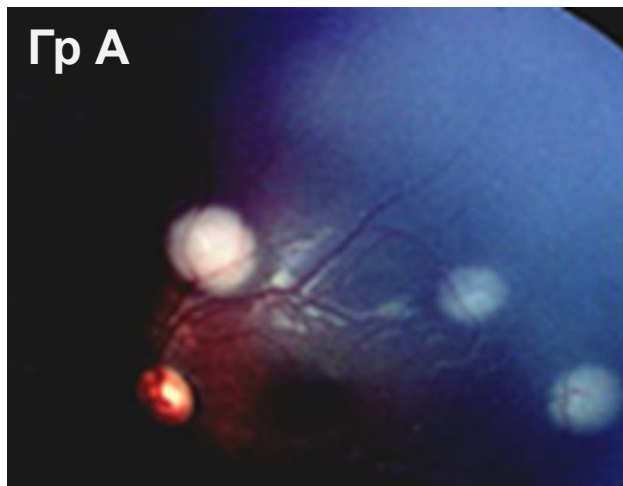
Первая СИАХТ в «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России пациенту в возрасте 12 мес. в феврале 2011г.

ИВХТ стала проводится с 2011г в МНТК и НИИ ДОГ

1. Ушакова Т.Л., Трофимов И.А., Яровой А. А., Горовцова О.В., Панферова Т.Р., Салтанов А.И., Долгушин Б.И., Поляков В.Г. **Первый опыт локальной химиотерапии интраокулярной ретинобластомы у детей.** Журнал Диагностическая и интервенционная радиология. - **2011.** - том 5 №4. - С. 77-83.
2. Саакян С.В., Жаруа А., Мякошина Е.Б., и др. Суперселективная интраартериальная химиотерапия в лечении резистентных и далекозашедших форм ретинобластомы: возможные осложнения и меры их профилактики. Российская педиатрическая офтальмология. Москва. 2013, 1:31-34.
3. Жаруа А.А. Комбинированное лечение далекозашедших и резистентных форм ретинобластомы. //Автореферат дисс. канд. мед. наук. Москва 2013.

В 2013 году на базе 3 ведущих специализированных медучреждений (НИИ ДОГ, МНТК и ин-т им. Гельмгольца) утвержден протокол «РБ 2012» для лечения детей с интраокулярной ретинобластомой

С целью определения возможности и видов органосохраняющего лечения для каждого глаза отдельно (Murphree AL, 2005) была предложена Международная классификация интраокулярной РБ по системе ABC (наиболее проблемные группы С, D, E)



Результаты лечения РБ n=129 глаз (110 детей)



• Комбинированное лечение

116 глаз

(ПХТ±ИВХТ±БТ±ТТТ±КРИО±ЛТ±СИАХТ)

Стадия:	Энуклеация:
B=18	0
C=20	2
D=63	11
E=15	6
Σ=116	Σ=19 (в том числе 5 с предварительной ДЛТ)

Всего сохранено 97 глаз (83%), при этом без ДЛТ и гамма-ножа - 89 глаз (76,8%).

При далекозашедших стадиях (гр. C, D, E) n=98 удалось сохранить 79 глаз (80,6%), при этом без ДЛТ и гамма-ножа 71 глаз (72,4%).

Период наблюдения: 9-77 мес.

Рецидив: 11 (долечивание ИВХТ±ТТТ±БТ), 4 (СХТ), 3 (СИАХТ)

Смерть 2 случая (Первый- ВЗО- лейкоз через 2,5 года от ремиссии и Второй- прогрессирование заболевания с интракраниальным распространением опухоли в возрасте 7 лет, неблагополучная семья. Не наблюдались в указанные сроки)

• Монорежим 13 глаз

(СИАХТ±ТТТ± БТ)

Стадия:	Энуклеация:
A=1	0
B=3	0
C=0	0
D=9	1
E=0	0
Σ=13	
Σ=1(неблагоприятная локализация остаточной опухоли- на ДЗН)	

Сохранено 12 глаз (92%), при этом в далекозашедших стадиях (гр. D) n=9 удалось сохранить 8 глаз (88,88%)

Период наблюдения: 6-16 мес.

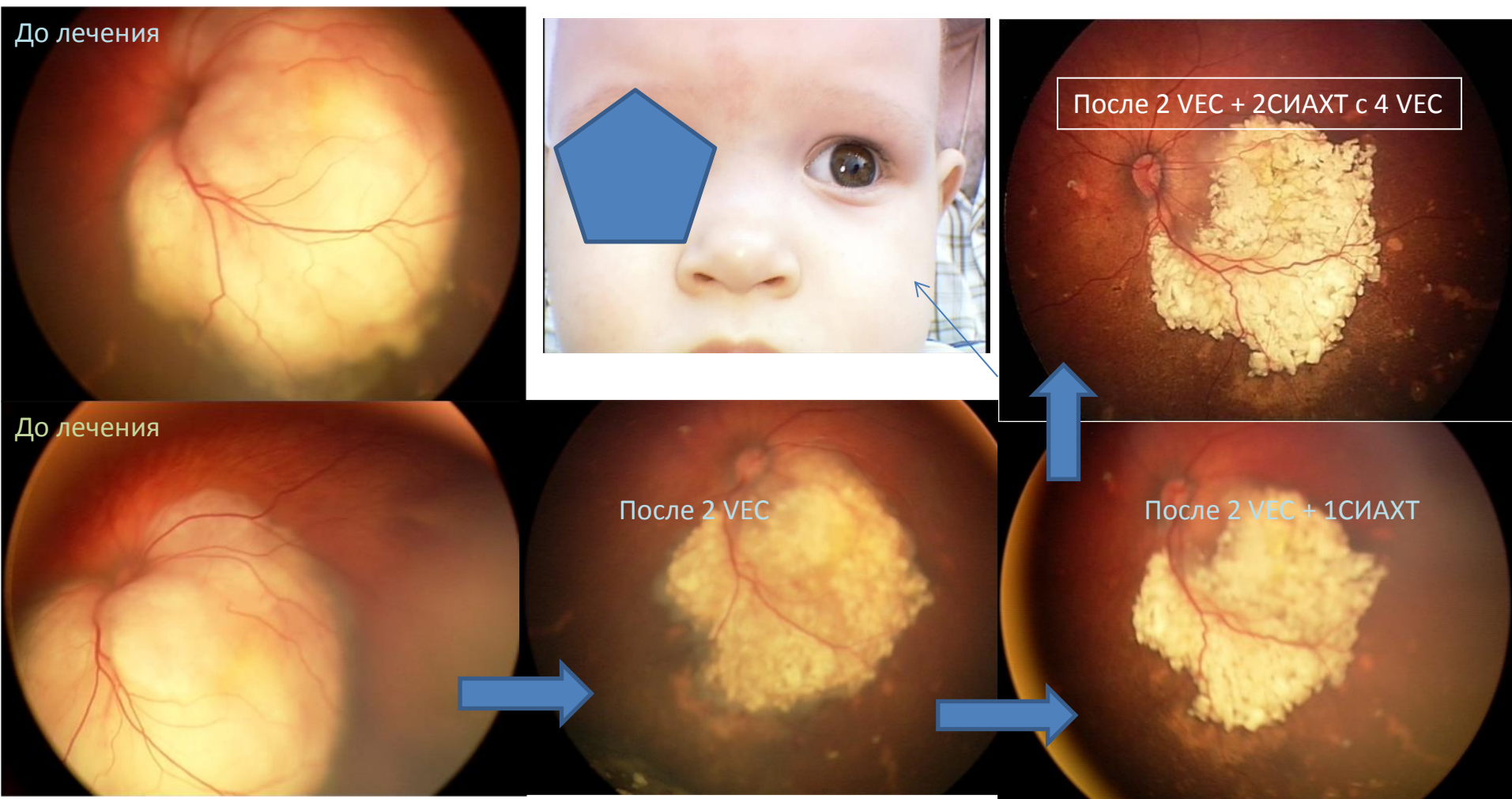
Рецидив: 1 случай (долечивание СИАХТ+ТТТ)

Все дети живы!

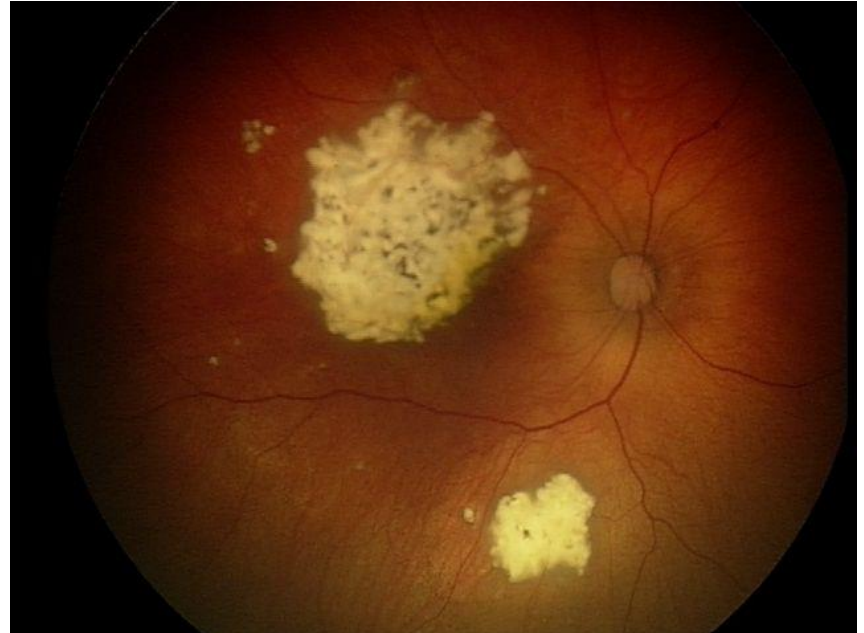
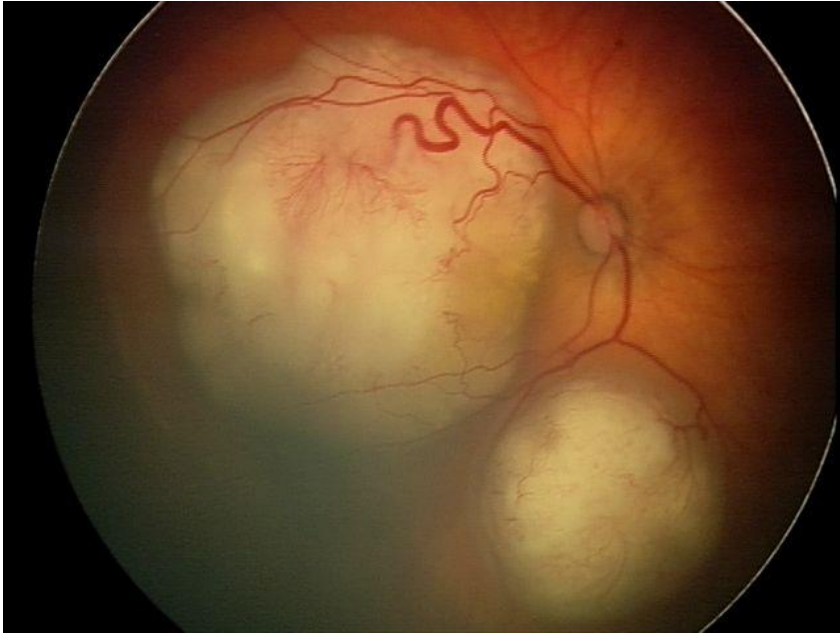
Средняя продолжительность наблюдения по сохранности глаз (от момента начала лечения до энуклеации и у остальных до 01.11.2017): **30,3±16,81 мес.**

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОЙ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

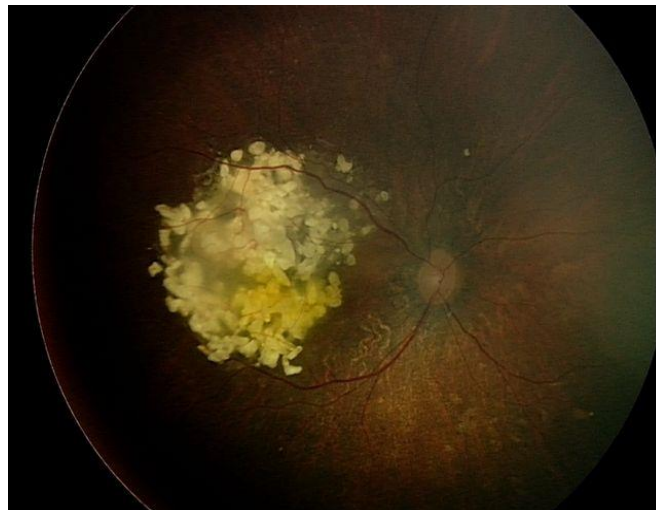
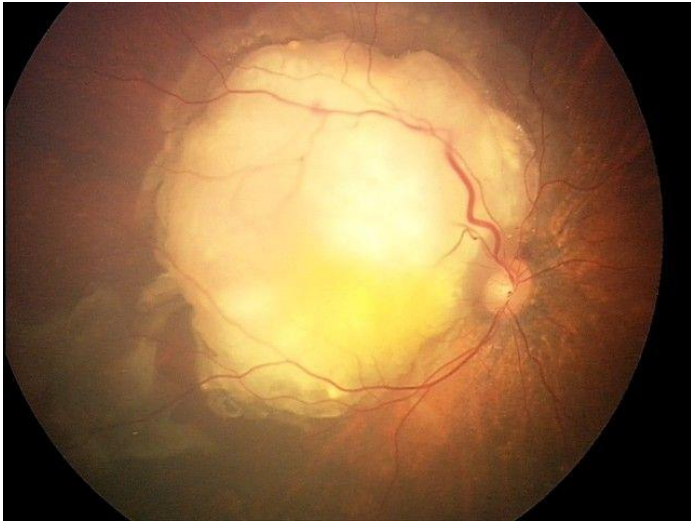
Группа «Офтальмоонкология» в составе отделения опухолей головы и шеи НИИ ДОГ



Регрессия опухоли после 2 СИАХТ



Регрессия опухоли после 1 и 2 курса СИАХТ



Практически все двусторонние и мультифокальные односторонние формы РБ являются наследственным заболеванием и частью синдрома с генетической предрасположенностью к развитию неоплазм (3,1% носителей мутации имели последующие первичные опухоли (саркомы костей, мягких тканей, меланому).

10-15% детей с односторонней РБ конституционно несут мутации гена RB1(Козлова В.М., с соавт. 2015).

Развитие наследственной ретинобластомы (РБ) и большинство ненаследственных её форм обусловлено мутацией онкосупрессорного гена *RB1*, который играет ключевую роль в контроле клеточного цикла, локализуется на длинном плече хромосомы 13(13q14.2)

Молекулярное тестирование гена RB1 является основным методом диагностики носителей мутации среди семейных и спорадических форм заболевания РБ.

Тестирование мутаций в гене RB1 (Медико-генетический научный центр) было проведено у 85 детей с РБ и 156 родственников из их семей, которые предварительно были консультированы в научно-консультативном отделении НИИ ДОГ между 2010-2016 годами.

Тестирование включало методы таргетного высокопроизводительного параллельного секвенирования ДНК и мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA).

Результаты генетического тестирования (n=85)

Использование секвенирования нового поколения (NGS) позволило выявить герминальные мутации в гене *RB1*:

96,4% (27/28) детей с двусторонней РБ

21% (12/57) с односторонней РБ.

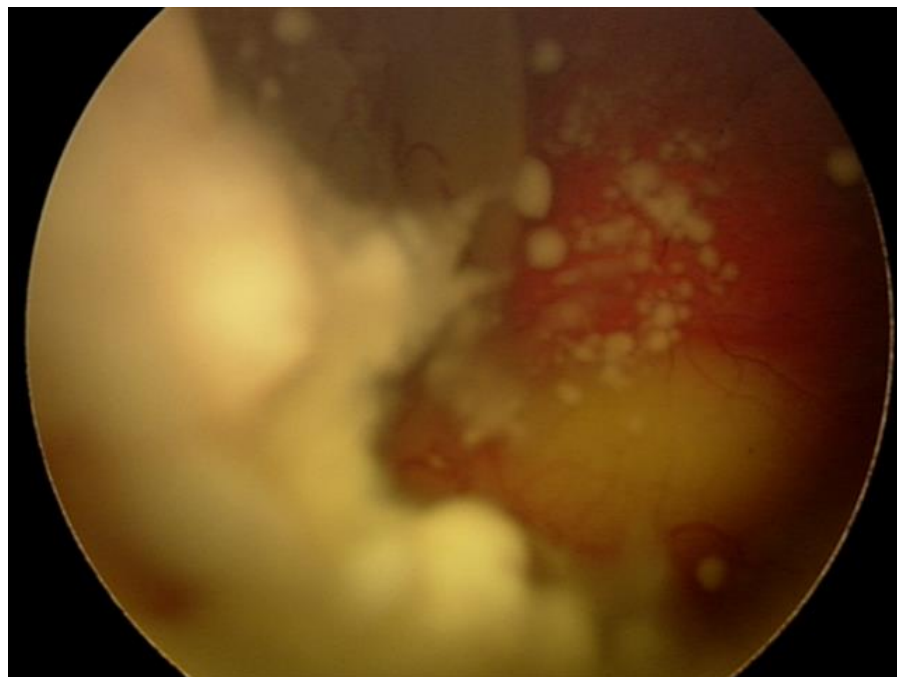
В целом герминальные мутации выявлены в 45,8% (39/85)

41% (16/39) мутаций локализовались в экзонах 12-18,19-23

Один случай мозаичной мутации в гене *RB1* был обнаружен у ребенка с односторонней РБ

У анализируемых больных в гене *RB1* обнаружены различные типы мутаций и изучена соответствующая им клиническая картина заболевания.

В большинстве случаев наследственная РБ развивается с высокой пенетрантностью (наличие клинических проявлений заболевания) и заболевание протекает в тяжелой форме (опухоль плохо лечится, часто рецидивирует, возникают новые опухолевые очаги).



«*RB1*-зависимые фенотипы»

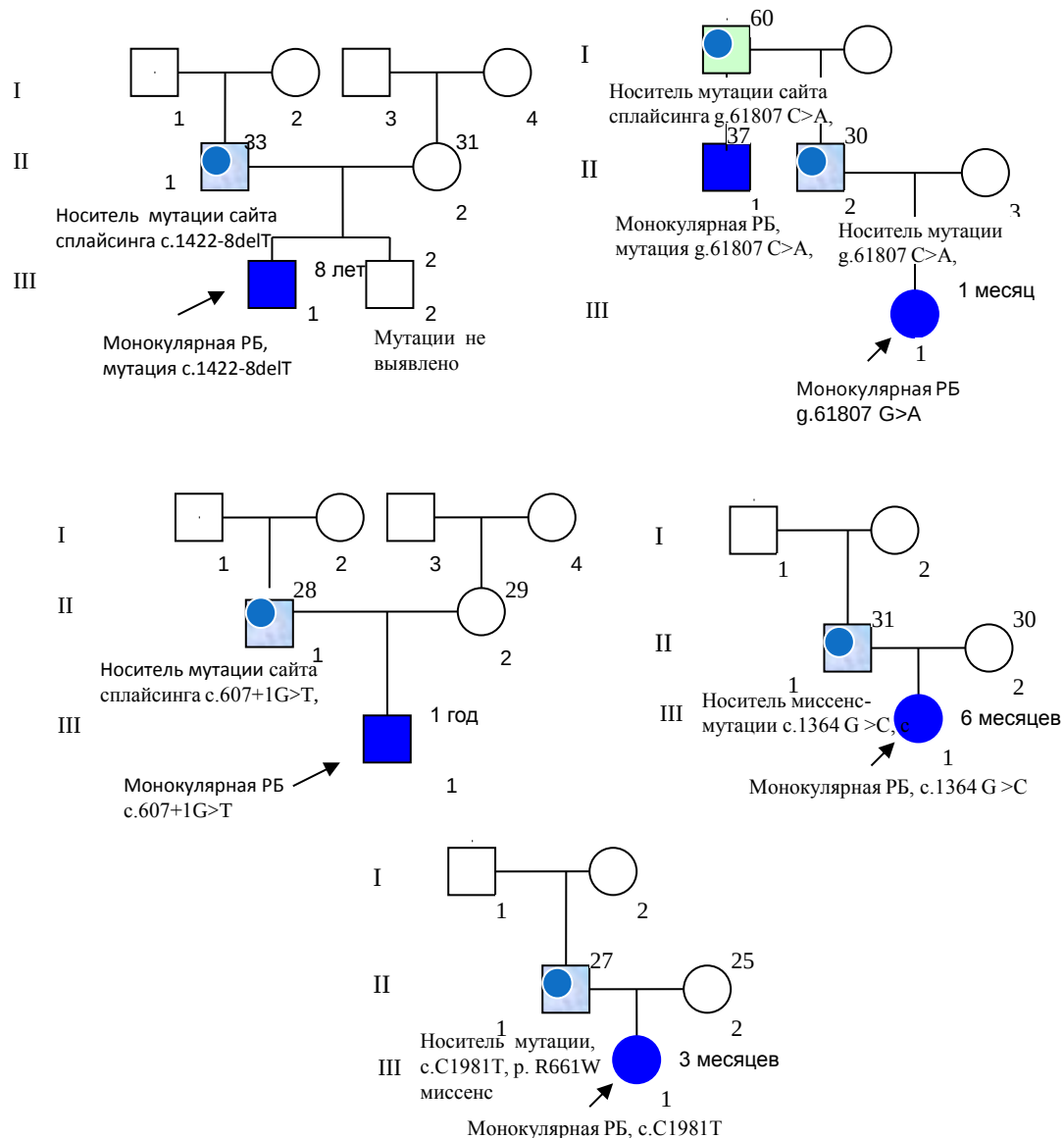
Клиническое течение заболевания у детей с **нонсенс мутациями, инсерциями, делециями** было с высоким трансформирующим потенциалом, **сопровождалось билатеральным, мультифокальным поражением сетчатки глаза, ранним началом РБ, появлением новых фокусов, несмотря на проведенное лечение.**



**Не у всех носителей герминальных мутации
в гене *RB1* возникает ретинобластома**

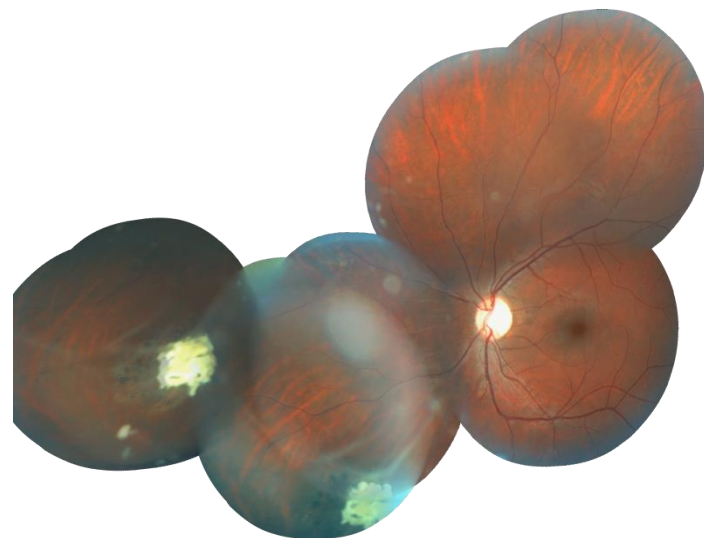
РБ может иметь неполную пенетрантность (отсутствие заболевания у носителей) и неполную экспрессивность (односторонность поражения, поздняя манифестация, единичные фокусы опухоли).

У 5 детей с односторонней РБ были обнаружены мутации сайта сплайсинга: с.607+1G>Т (интрон 6); с.1422-8delТ (экзон 16); g.61807 G>А (экзон 9); миссенс-мутации: с.1364 G >С (14 экзон); с.1981 С >Т (20 экзон), которые они унаследовали от непораженных отцов-носителей тех же самых мутаций.



Семья с неполной экспрессивностью ретинобластомы

7 месячного ребенка (III-1)
диагностирована двусторонняя РБ,
тестирование гена *RB1* выявило у
ребенка и её матери (II-2) нонсенс-
мутацию с.1363C>T, (p.R455X) экзон 14
в гетерозиготном состоянии.
При расспросе матери она не
отмечала заболеваний глаз, но при
осмотре наблюдалось непостоянное
косоглазие OD. При обследовании в
возрасте 30 лет глазного дна, у нее
были обнаружены по периферии
сетчатки очаги кальцификации и
очаги хориоретинальной дистрофии
вокруг них с переходом на сетчатку,
расценены как ретинома в стадии
инволюции возможно ещё в детстве,
о которой она не знала



из фотоархива ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза»
им. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва

Современные возможности ДНК диагностики ретинобластомы

Екатерина Алексеева

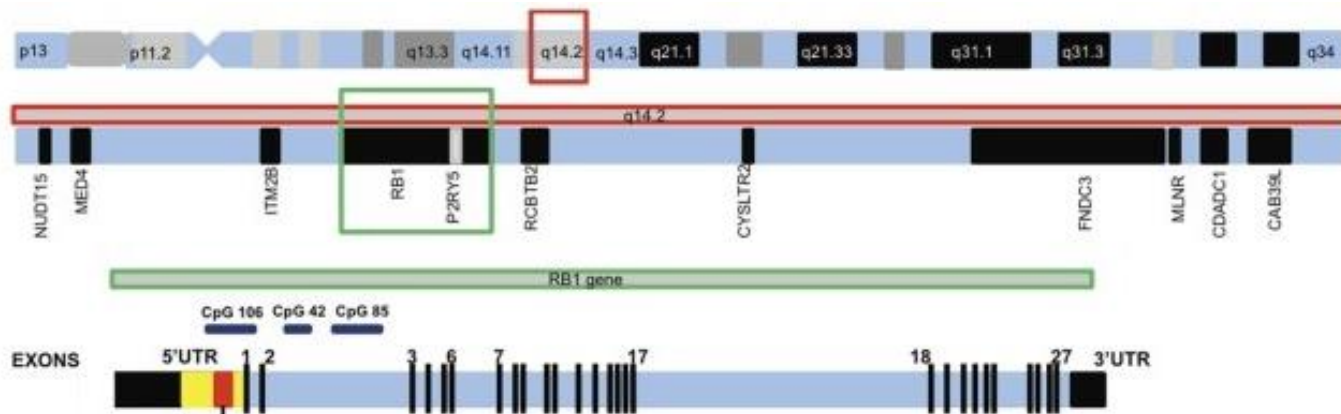
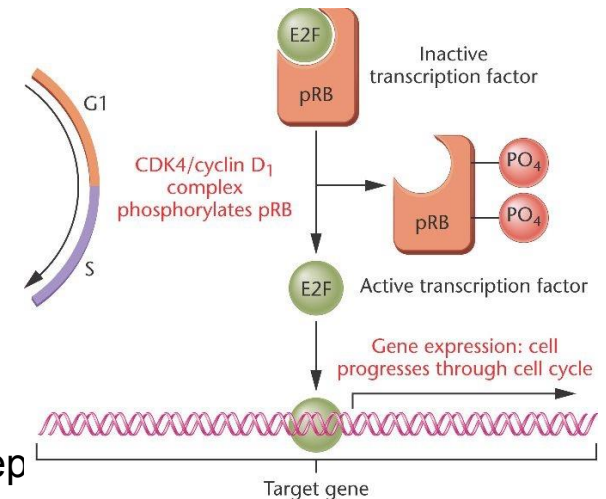
Медико-генетический научный центр
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Москва 21.12.2017



Ген *RB1*

- Ген-супрессор опухолевого роста;
- Локализован 13q14.2;
- 27 экзонов, 180 кВ;
- Кодировывает ядерный фосфопротеин (pRb);
- Является негативным регулятором клеточной пролиферации;
- pRb в активном гипофосфорилированном состоянии способен связывать фактор инициации транскрипции E2F.



Спектр повреждений в гене *RB1*

90%



Точковые мутации

Нонсенс-мутации

Миссенс-мутации

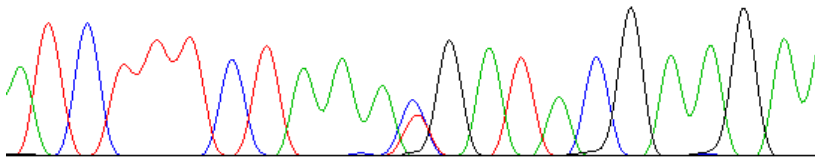
Мутации сайта сплайсинга

Короткие инсерции/делеции

Со сдвигом рамки считывания

Без сдвига рамки считывания

A T C T T T C T A A A N G A T A C G A A G A J

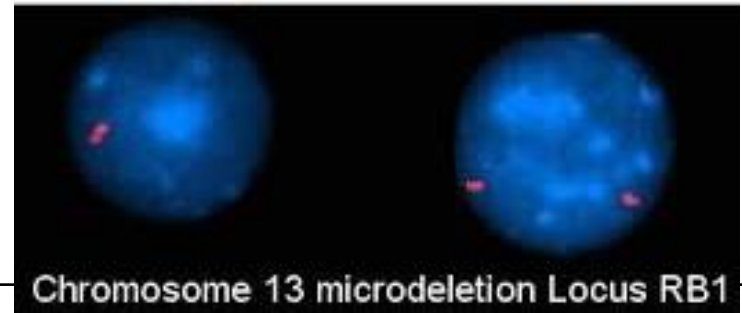


Нонсенс-мутация в 10 экзоне гена *RB1*
с.C958T, p.R320X

8%



Протяженные делеции



Chromosome 13 microdeletion Locus *RB1*

2% - метилирование промотанной области гена *RB1*

Молекулярно-генетическое исследование изменений в гене *RB1* при РБ

- Необходимо для подтверждения или исключения наследственного характера заболевания, что позволяет выбрать адекватный алгоритм наблюдения и лечения опухоли;
- Важна для эффективного генетического консультирования;
- При наследственной форме РБ ген *RB1* поврежден во всех соматических клетках организма, для таких пациентов существует большой риск развития других опухолей различной локализации.

Материалы

- Проведена оценки спектра структурных повреждений в гене *RB1* у пациентов с наследственной и спорадической формой РБ.
- **Материалы:** 94 пациент:
 - 28 пациентов с билатеральной формой
 - 66 пациента с унилатеральной формой;
 - 21 пациент - молекулярный анализ гена *RB1* проводили в ДНК из фиксированных формалином тканей опухолей и ДНК из лимфоцитов периферической крови;
 - 73 пациентов - исследование проводили только на ДНК из лимфоцитов периферической крови (при отсутствии материала опухоли).

Методы

Точковые мутации,
короткие делеции/инсерции



Высокопроизводительное параллельное
секвенирование (ВПС) на приборе Ion Torrent
S5 (Life Technologies, USA)

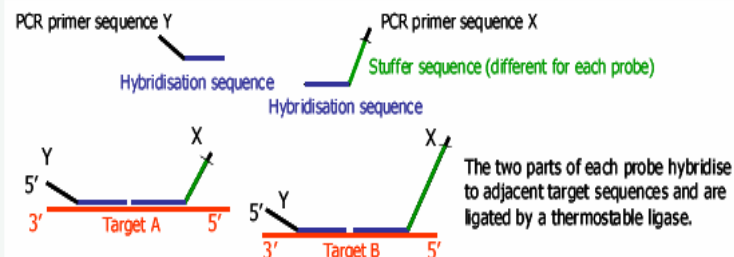


Валидация выявленных мутаций методом
секвенирования по Сэнгеру

Протяженные делеции



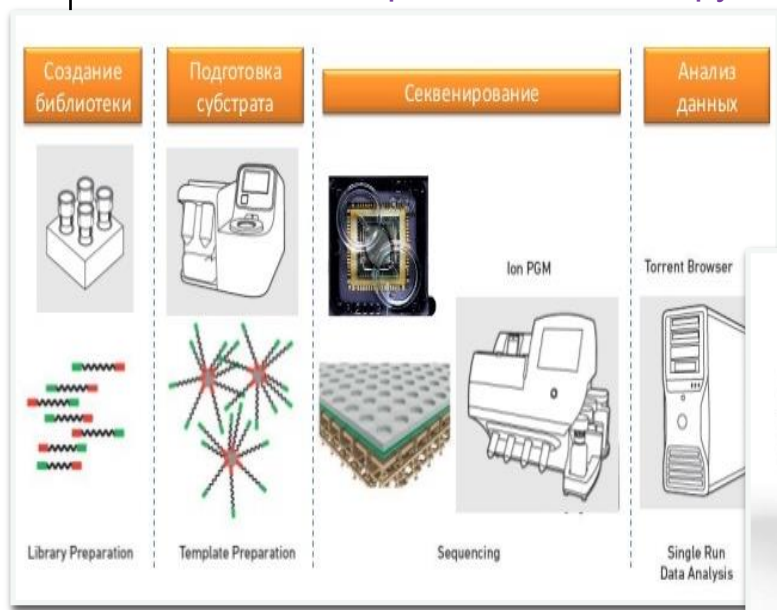
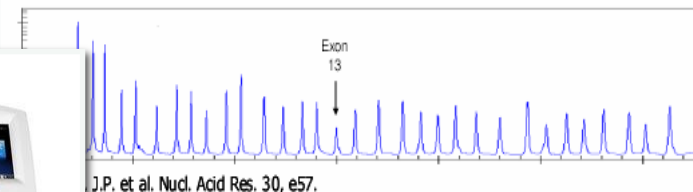
MLPA



All probe ligation products are amplified by PCR using only one primer pair.



Amplification products are separated by electrophoresis. Relative amounts of probe amplification products, as compared to a control DNA sample, reflect the relative copy number of target sequences.



Спектр мутаций, обнаруженных в гене *RB1*, по результатам ВПС ДНК

Изменения в гене *RB1*:

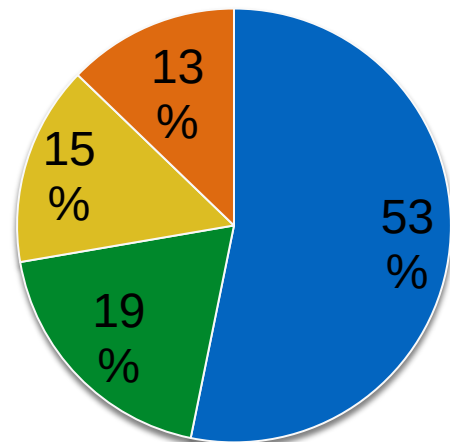
- при билатеральной форме – 96,4% (27/28);
- при унилатеральной форме – 34,8% (23/66).

Выявлено мутаций:

- 34 мутация в ДНК из лимфоцитов периферической крови;
- 26 мутации в ДНК опухолевого материала;
- всего - 50 мутаций (у 21 пациента, у которых одновременно исследовались ДНК ткани опухоли и периферической крови, одинаковые мутации, выявленные в ДНК ткани опухоли и периферической крови, принимались за одну) ■ Нонсенс-мутации

Тип мутации	Билатеральная форма	Унилатеральная форма
Нонсенс-мутации	c.1735C>T ² ; c. 409G>T; c.460A>T; c.1030C>T; c.1654C>T ³ ; c.763C>T; c.1363C>T ² ; c.179T>G; c.1072C>T; c.958C>T; c.1333C>T	c.1399C>T; c.2104C>T; c. 409G>T; c.751C>T; c.1363C>T ^{**3} ; c.880A>T; c.1688G>A; c.2359C>T; c.958C>T*
Миссенс-мутации	c.2084T>T	c.2069A>G; c.2134T>C ² ; c.1981C>T; c.1161G>A
Мутации сайтов сплайсинга	c.607+1G>T; c.608-12T>G; c.1215+1G>T; c.2520+1delGAGT; c.137+1G>T; c.1695+5G>T; c.2325+1G>T; c.540-2A>G	c.1333-1G>A
Мутации сдвига рамки считывания	c.2356delC; c.1724delA; c.1736delG	c.1875delT; c.1887delGA; c.865delA; c.1014delTC; c.2326delC

*- выявлен мозаичный вариант мутации, ² – мутация выявлена в двух семьях, ³ – мутация выявлена в трёх семьях.

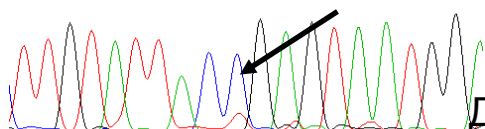


Мозаичные мутации в гене *RB1*

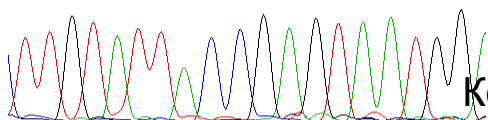
- Происходят на ранних этапах постзиготических рекомбинаций в развитии эмбриона;
- Мозаичные мутации гена *RB1* встречаются с частотой 5,5% при билатеральной РБ и 3,8% при моностеральной;
- Проблема выявления мозаичных мутаций решается только индивидуальным секвенированием множества молекул ДНК образца (высокопроизводительное параллельное секвенирование).

T T G T A T T A C C G A G T A A T G G A

Мутация или технический шум?

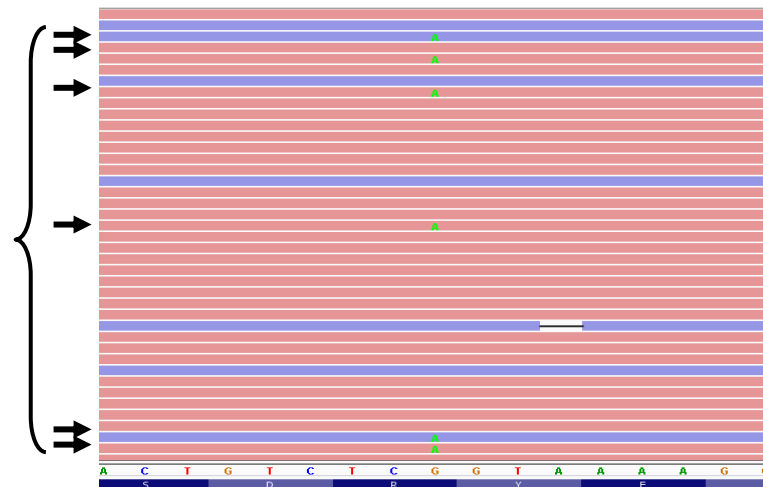
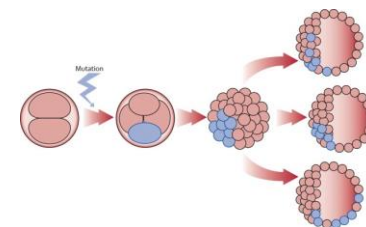


ДНК больного



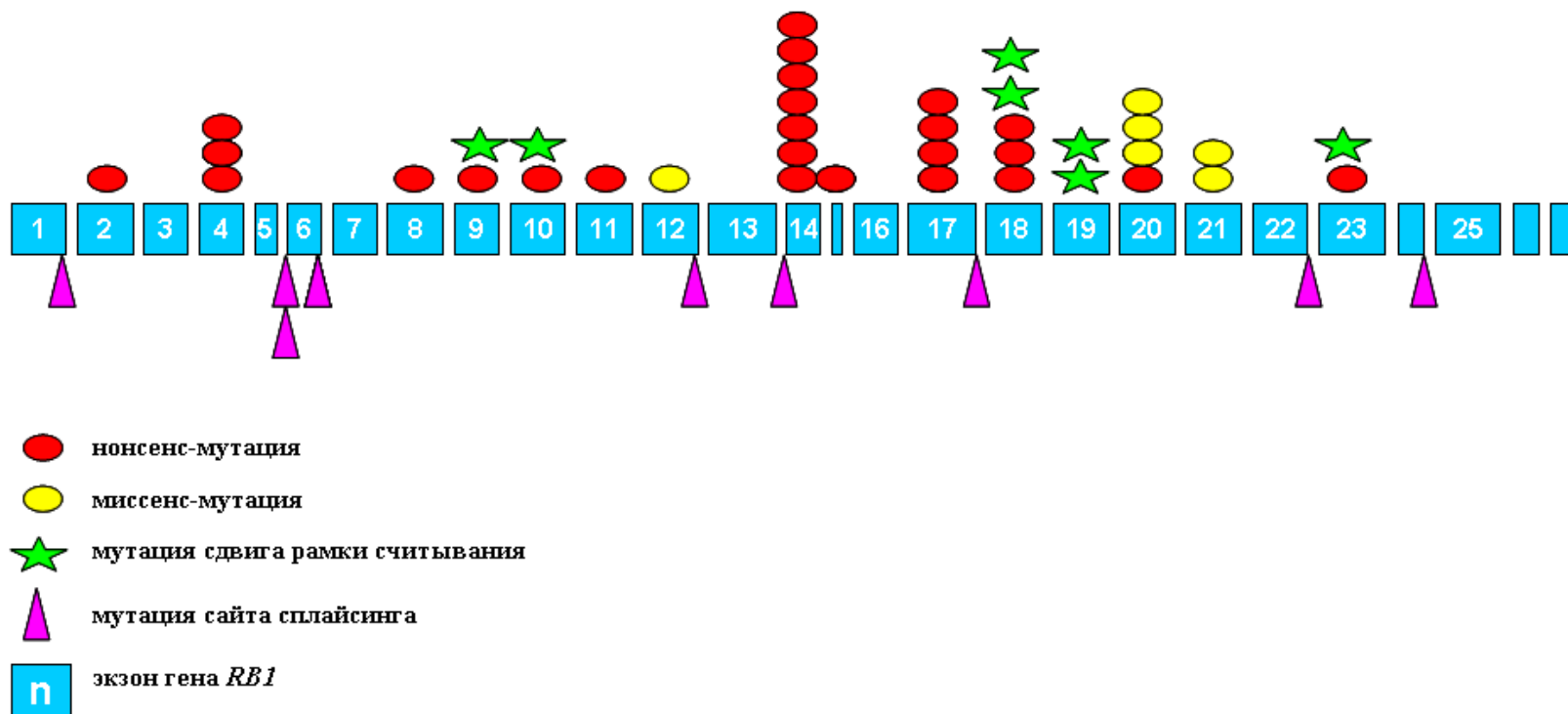
Контрольная ДНК

Мозаичная мутация с.С1363Т (р.Р455Х)
С - 80%, Т - 20%



Мозаичная мутация	Экзон	Процентное содержание
c.R320X	10	С - 80%, Т - 20%
c.R455X	14	С - 80%, Т - 20%
c.R455X	14	С - 74%, Т - 26%
c.776FS	23	10%delC

Распределение и спектр мутаций, обнаруженных в гене *RB1*, по результатам ВПС



3, 5, 7, 13, 16, 25, 26, 27 – экзоны, в которых не выявлены мутации в гене *RB1*

Частые мутации, обнаруженные в гене *RB1*, по результатам ВПС

Составили 32,0% (16/50) среди всех молекулярных нарушений, обнаруженных с помощью ВПС

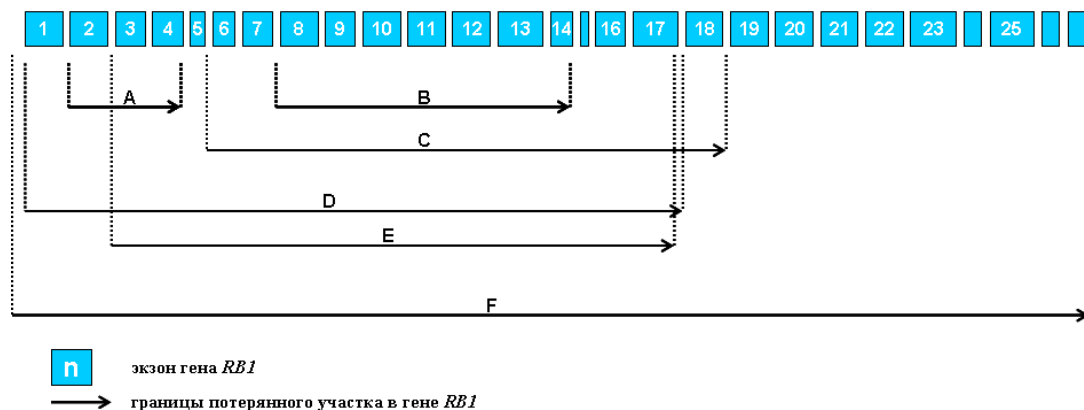
Экзоне гена <i>RB1</i>	Название мутации (кДНК)	Название мутации (белок)
4 экзон	c.409G>T	p.E137X
14 экзон	c.1363C>T	p.R455X
17 экзон	c.1654C>T	p.R552X
18 экзон	c.1735C>T	p.R579X
21 экзон	c.2134T>C	p.C712R

Согласно литературным источникам, выделяют около 14 мутаций в гене *RB1*, которые являются часто встречающимися при ретинобластоме. Для большинства таких мутаций характерна замена С>Т в аргининовом кодоне, приводящая к образованию стоп-кодона.

Протяженные делеции в гене *RB1*, выявленные методом MLPA

47,6% - соматические делеции в гене *RB1*;

4,4% - герминальные делеции.



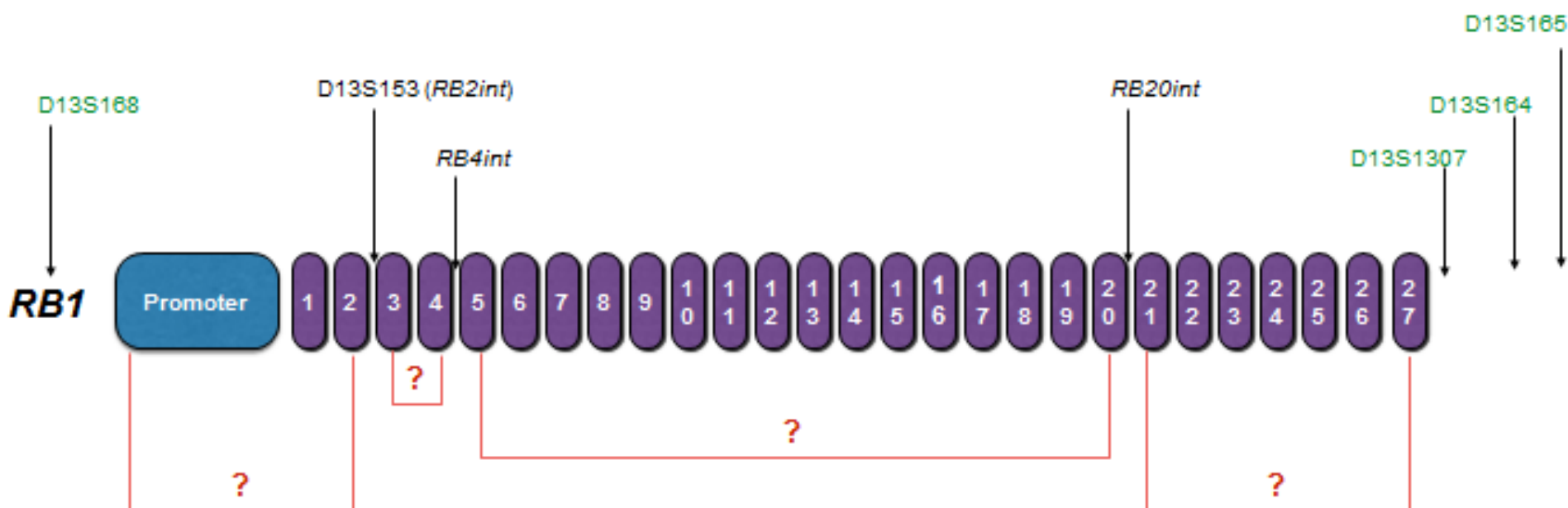
Делеция
с 3 по 17
экзон

Нор
ма

Probe target info		rb-404kr	N1	N2
FRSS (n=7)	rb-404kr	100%	100%	100%
CAS (n=5)	FMRS	88%	95%	85%
	PSLP - Relati	Warning	OK	OK
	PSLP - Relati	OK	OK	OK
	RSQ - Refere	Warning	Warning	Warning
	RPQ - Refere	OK	OK	OK
13q (n=42)	ENOX1-6	0.89	0.97	1.03
	ITM2B-5	0.84	0.97	1.04
	RB1-1	0.75	0.97	1.03
	RB1-1	0.75	1.02	0.98
	RB1-1	1.1	1.09	0.93
	RB1-1	0.99	1.06	0.94
	RB1-2	0.94	1.04	0.96
	RB1-Intr. 2	0.85	0.96	1.04
	RB1-Intr. 2	1.05	1.1	0.91
	RB1-Intr. 2	1.08	0.96	0.95
	RB1-Intr. 2	0.51	0.99	1.01
	RB1-3	0.51	0.93	1.08
	RB1-4	0.56	1.06	0.95
	RB1-5	0.47	0.98	1.02
	RB1-6	0.42	0.92	1.09
	RB1-7	0.48	0.96	1.06
	RB1-8	0.33	1.01	0.99
	RB1-9	0.43	1.05	0.95
	RB1-10	0.47	1.01	0.99
	RB1-11	0.5	1.04	0.97
	RB1-12	0.39	0.92	1.09
	RB1-12	0.42	0.95	1.05
	RB1-13	0.34	0.88	1.16
	RB1-14	0.44	0.96	1.04
	RB1-16	0.45	1.04	0.97
	RB1-17	0.46	1.02	0.98
	RB1-18	0.83	0.88	1.15
	RB1-19	0.95	0.96	1.05
	RB1-20	0.85	0.95	1.05
	RB1-21	0.97	0.97	1.04
	RB1-22	0.88	0.94	1.07
	RB1-23	0.95	0.91	1.11
	RB1-24	0.91	0.93	1.08
	RB1-25	0.96	0.93	1.08
	RB1-26	0.9	0.92	1.1
	RB1-27	0.98	0.94	1.06
	RB1-27	0.92	0.93	1.09
	RCB1B2-8	0.86	0.99	1.01
	DLEU1-2	0.91	0.96	1.04
	PCDH8-3	0.94	0.92	1.1
	PCDH8-2	0.9	0.99	1.01
02q (n=1)	SLC9A2-2	0.97	0.97	1.03
	TTC39A*	0.98	1.03	0.97
	SATB2*	1.13	0.93	1.08
	DNAH5*	1.06	0.96	1.05
	IL4*	0.9	0.91	1.1
	PCSK5*	1.1	0.99	1.01
	SMPD1*	0.92	1	0.91
References	MYBP3C*	1.24	1.11	0.91
	COL2A1*	0.92	1.03	0.97
	MYH7	1.03	1.04	0.97

- A. 1:10 пациентов с соматической делецией в гене *RB1* (экзоны 2-4);
 B. 1:10 пациентов с соматической делецией в гене *RB1* (экзоны 8-14);
 C. 1:10 пациентов с соматической делецией в гене *RB1* (экзоны 6-18);
 D. 1:4 пациентов с герминальной делецией в гене *RB1* (экзоны 1-17);
 E. 1:4 пациентов с герминальной делецией в гене *RB1* (экзоны 3-17);
 F. 7:10 пациентов с соматической делецией и 2/4 пациентов с герминальной делецией в гене *RB1* (экзоны 1-27).

Микросателлитный анализ в диагностике РБ



Микросателлитный маркер	Расположение
D13S168	1Mb дистальнее гена <i>RB1</i>
D13S153 (<i>RB2int</i>)	2 интрон гена <i>RB1</i>
<i>RB4int</i>	4 интрон гена <i>RB1</i>
<i>RB20int</i>	20 интрон гена <i>RB1</i>
D13S1307	50Kb проксимальнее гена <i>RB1</i>
D13S164	0,4Mb проксимальнее гена <i>RB1</i>
D13S165	0,8Mb проксимальнее гена <i>RB1</i>

Результаты

- В группе пациентов с билатеральной формой заболевания герминальная мутация выявлена в 96,4% (27/28) случаев;
- В 100% (4/4) случаев в гене *RB1* в материале опухоли пациентов с двусторонней формой ретинобластомы выявлено 2 изменения (герминальная и соматическая мутации) в обоих аллелях гена, приводящие к его инактивации;
- В группе больных с унилатеральной формой заболевания герминальная мутация определена в 18,2% (12/66) случаев, то есть установлена наследственная форма заболевания.

Тип мутации	Герминальные мутации, выявленные при односторонней форме РБ:
Миссенс-мутация (4/9)	с.2069A>G с.2134T>C с.1981C>T с.1161G>A
Мозаичный вариант (4/9)	с.1363C>T, с. 958C>T, с.2326delC
Протяженные делеции (4/9)	

- В 88,2% (15/17) случаев в гене *RB1* в материале опухоли пациентов с унилатеральной формой ретинобластомы выявлено 2 изменения (2 соматические мутации).
- В остальных случаях выявлено только одно событие в материале опухоли, такая ситуация может быть объяснена развитием опухоли вследствие других механизмов (метилирование промоторного района гена *RB1* или амплификация гена *MYC*)
- Для 8 семей, пробандами в которых явились больные с унилатеральной формой ретинобластомы, установлен семейный характер заболевания, то есть мутация выявлена также у одного из родителей.

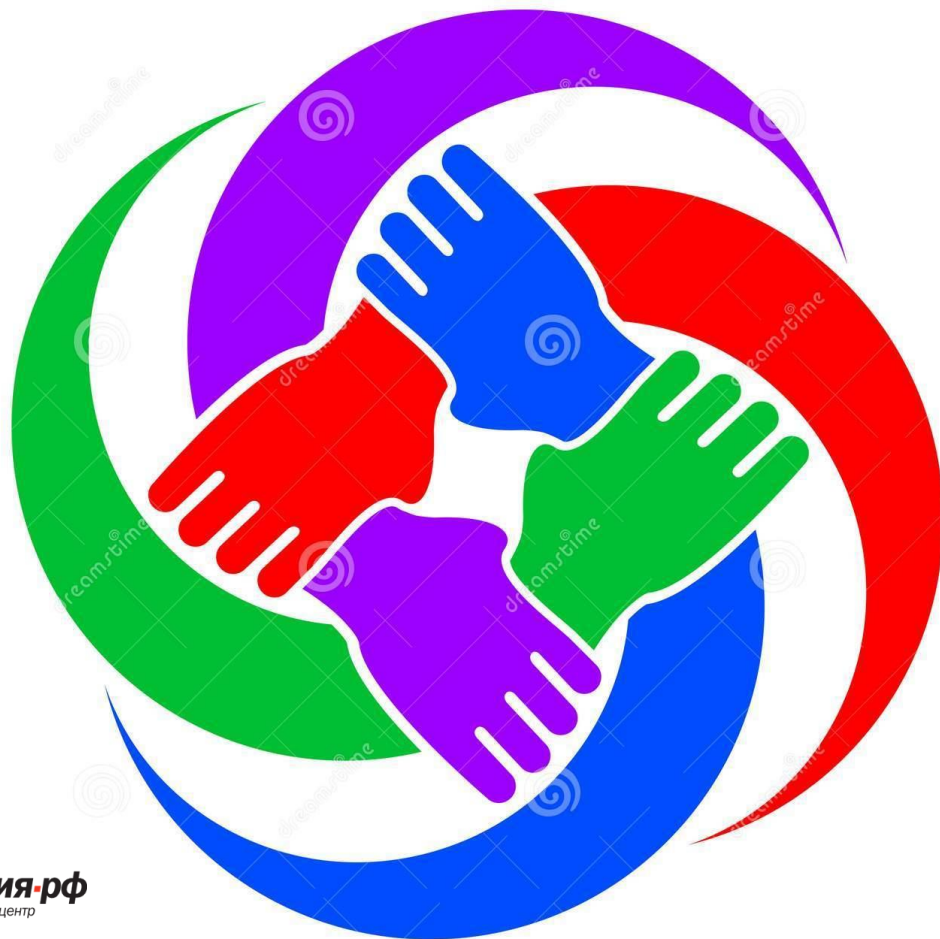
Практическое значение ДНК-диагностики гена RB1

1. Спектр выявленных мутаций указывает на важность генетического тестирования **всех пациентов с РБ** и родственников первой линии родства
2. Использование двух новых высокотехнологичных подходов в молекулярно-генетической диагностике у пациентов с РБ:
 - 1) обеспечивает эффективную диагностику заболевания и позволяет установить характер генетического нарушения за относительно короткое время;
 - 2) выявить мозаичные варианты мутаций, что часто затруднено при использовании секвенирования по Сэнгеру.
3. Клиническое течение РБ у носителей мутаций в гене RB1 зависит от типа мутации
4. Генетическое тестирование позволяет:
 - 1) выявлять бессимптомных носителей низкопенетрантных мутаций
 - 2) герминальный мозаицизм
 - 3) осуществлять раннюю диагностику с индивидуальным планированием лечения и наблюдения после выздоровления
 - 4) планировать потомство



Выявление генетически детерминированных форм РБ позволяет своевременно лечить и осуществлять профилактику этого заболевания, и что особенно важно, требует сотрудничества педиатров, офтальмологов, онкологов, генетиков и молекулярных биологов.

Молекулярное тестирование ДНК гена *RB1* способствует идентификации носителей мутаций, облегчает генетическое консультирование по прогнозу потомства.





*Спасибо за
внимание!*

